

← Omaggio dell' Autore →

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI CAGLIARI

DIRETTO DAL PROF. O. CASAGRANDE

DoTT. SAVERIO GRANATA

SULLA ETIOLOGIA DEGLI ORECCHIONI

DA VIRUS FILTRABILE

(Nota preventiva)



CAGLIARI

STAB. TIPOGRAFICO G. SERRELI

1908

ISTITUTO D'IGIENE DELLA R. UNIVERSITÀ DI CAGLIARI

DIRETTO DAL PROF. O. CASAGRANDE

DOTT. SAVERIO GRANATA

SULLA ETIOLOGIA DEGLI ORECCHIONI

DA VIRUS FILTRABILE

(Nota preventiva)



CAGLIARI

STAB. TIPOGRAFICO G. SERRELI

1908

Per quanto sia stato scritto intorno alla etiologia della parotite epidemica non si può ancora affermare che essa sia stata scoperta.

Dai primi lavori sulla contagiosità di questa infezione, dai quali si rileva anche la contagiosità sullo stesso individuo, tra organo ed organo, particolarmente nei testicoli, e tra i quali emerge specialmente il lavoro del Filatoff che rimonta al 1899, nulla evvi che possa fermare l'attenzione in rapporto all'esistenza di un possibile agente della parotite. Ciò però non toglie che fino dal 1881 Charrin e Capitan (1) avessero descritti nel sangue di 6 parotitici dei piccoli batteri, ora di forma rotonda, ora a bastoncino, mobili e che l'anno seguente il Védrenes (2) insistesse sulla presenza, in 8 ammalati, di bacilli o cocchi, ora anche a forma di diplococchi e di streptococchi, senza alcuna azione verso i cani, i conigli e le cavie; ossia che sino da quell'epoca esistessero delle osservazioni sulla natura batterica della parotite.

Esse del resto non sono le sole. Si citano, infatti, quelle del Bouchard (3), che avrebbe riscontrato nella saliva, nel dotto stenoniano un grande numero di batteri in un caso di parotite nel 1883; quelle nel 1885 del Boinet (4) sul sangue di 15 ammalati, con reperto di cocchi o diplococchi e di bacilli; quelle del Netter (5) sulla presenza ancora di micrococchi, quelle del Bordas (6) nel 1889 che fermò l'attenzione sopra un grande bacillo nel sangue e nello sputo, cui seguono alcune comunicazioni del Laveran e del Catrin (7) sulla presenza di un diplococco ritrovato in un gran numero di casi nella parotide e nel testicolo, del quale hanno fatto culture e del quale danno

(1) C. R. Soc. Biol., 1881.

(2) Citato da Korentchewsky, C. f. Bekt. Bd. 44.

(3) These de Paris, 1882.

(4) Lyon Med., 1885.

(5) Leçon de clin. Med., Paris 1885.

(6) C. R. Soc. Biol., 1893.

(7) Gazz. Hop. 1893.

anche una descrizione. E sulla presenza di diplococchi insistevano l'Antony⁽¹⁾ nel 1893, il Mecray e il Walch⁽²⁾ nel 1896, e ancora il Busquet⁽³⁾ nello stesso anno, il quale parla più propriamente di un diplo-streptococco.

E tale diplo-streptococco, se non erro, veniva ulteriormente rinvenuto in casi di parotite dei cani, nonchè nell'uomo, senza per altro che alcuno ottenesse con questo germe nè nei conigli, nè nei topi, nè nei gatti la riproduzione dell'infezione.

Così si giunge alle osservazioni eseguite dal Teissier e dall'Esmein⁽⁴⁾ sul sangue, sulla saliva e su altri liquidi di parotitici, con il reperto di un micrococco della grandezza di μ . 0,6 a 1,5, isolato o riunito a diplococchi o a tetraedi, nonchè a catenelle e ad ammassi zoogleici, e non resistente al Gram.

In questa prima comunicazione gli A. A. insistono sugli accenni fatti precedentemente a micrococchi in caso di parotite e particolarmente a quelli fatti da Laveran e Catrin, e a quelli degli altri osservatori che hanno parlato di micrococchi con la forma predominante a diplo. Essi ritengono che il loro germe sia da classificarsi tra i micrococchi tetrageni settici e sia paragonabile alla varietà settica dei tetrageni studiata da uno di loro nel 1893.

La comunicazione di Teissier e Esmein è l'unica che tenda a segnare un passo decisivo sulla conoscenza dell'etiologia della parotite epidemica, in quanto che gli A. A. vorrebbero fare considerare questa infezione come la conseguenza di una infezione tetragenica, di una setticemia tetragenica il più delle volte attenuata; conclusione avvalorata da ulteriori loro ricerche, eseguite in vari animali, con il micrococco isolato da ammalati di orecchioni.

Tali ricerche li avrebbero condotti a ottenere nelle cavie delle lesioni identiche a quelle che si rilevano nella setticemia tetragenica umana, e persino dei fatti reattivi da parte del testicolo, aventi relazione con quelli che si osservano negli organi di malati di orecchioni⁽⁵⁾.

Si aggiunga a ciò che gli A. A. avrebbero trovato che il siero degli ammalati di orecchioni agglutinava il loro micrococco nei rapporti di 1:50 e 1:100, e con prove di controllo avrebbero dimostrato che il siero di un ammalato si comportava identicamente rispetto ai micrococchi isolati da casi diversi di orecchioni.

Escludendo ancora la circostanza che il loro germe, come il diplococco della polmonite, potesse ritrovarsi normalmente nella saliva degli individui sani, e che fosse agglutinabile dal siero di altri malati (il siero di una

(1) Rapp. soc. med. des hôpit 24 févr. 1893.

(2) Med. Rec., 1896.

(3) Revue de med., 1896.

(4) C. R. Soc. Biol. 1907 p. 803.

(5) C. R. Soc. Biol. Paris 1907 pag. 853.

tifosa lo agglutinava però nel rapporto di 1:25!) (1) essi mostrano di credere di avere scoperta l'etiologia degli orecchioni.

E le stesse ricerche ripetute dal Korentchewstky (2) lo avrebbero indotto a trovare il germe del Teissier e Esmein nella saliva, nel sangue, nel canale di stenone e nell'essudato della parotide; agglutinabile inoltre, specie nelle forme gravi, nella proporzione di 1:10, 1:100, e non agglutinabile dal siero degli individui sani, coltivabile ma incapace di riprodurre sperimentalmente delle malattie nè nei topi, nè nelle cavie, nè nei conigli, nè nei cani.

Nonostante il pregio indubbiamente scientifico dei lavori di Teissier e di Esmein, e le osservazioni eseguite con grande dettaglio sul medesimo germe dal Korentchewsky, si è però ancora ben lungi dal poter affermare che il micrococco in discorso sia l'agente dell'infezione parotitica.

Lo stesso Korentchewstky non se ne mostra convinto.

Recentemente, del resto, altri non ha confermato questo reperto. Così al Mirone (3), i risultati dell'esame batteriologico sono riusciti del tutto negativi.

Questo A. esaminando 57 casi di orecchioni per mezzo dell'esame batteriologico del sangue, e del contenuto della ghiandola, non ha trovato dal sangue sviluppo che in 4 casi su 39, rinvenendo diplococchi, stafilococchi; e dalla puntura della ghiandola in 14 casi i terreni colturali rimasero sterili.

Dalla disamina della letteratura quindi risulta che dopo le prime ricerche sull'etiologia della parotite, conducenti a trovare, come causa della medesima, cocchi o batteri non bene definiti, l'attenzione degli studiosi è stata fermata sopra diplococchi, e poscia sopra un cocco speciale ben caratterizzato da Teissier ed Esmein e poi ancora dal Korentchewsky, finchè si giunge in questi ultimi tempi al lavoro del Mirone che trova sterile il contenuto della ghiandola.

*
* *

Io ho preso a studiare l'infezione parotitica con l'intento precipuo di stabilire se il virus che la determina appartenesse alla categoria dei virus filtrabili, conducendo le esperienze in modo da precisare nello stesso tempo, eventualmente la sua natura da batteri coltivabili.

(1) C. R. Soc. Biol. 1907 p. 897.

(2) Cent. f. Bakkt. O. Bd. 44 - 1907.

(3) R. Acc. Med. Torino seduta 3 luglio 1908. V. Policl. Anno XV, fasc. 31.

Benchè le mie ricerche non siano complete, tuttavia ho creduto opportuno, dato i fatti sinora assodati, di pubblicare questi miei risultati sulle indagini fatte esclusivamente sulla saliva di due parotitici raccolta nell'acme dell'infezione.

Dirò subito che la saliva seminata in agar ha dato luogo allo sviluppo di un certo numero di germi, su alcuni dei quali non ho fermato l'attenzione per la loro ben nota banalità, e precisamente su alcune sarcine, su alcuni bacilli appartenenti al gruppo del sottile e del mesenterico.

Fermò solo un momento la mia attenzione una forma di coccobacterio che rinvenni in tutti e due i casi studiati; ma esso inoculato nei comuni animali di laboratorio non determinò altro che la formazione d'ascessi nel sito di inoculazione, a contenuto purissimo, e mai lesioni testicolari. Aggiungo ancora che il siero degli individui affetti da parotite non ha dimostrato alcuna azione agglutinante su detto germe.

Passando dopo ciò a riferire le ricerche eseguite coi filtrati, dirò senz'altro, che ho trattato la saliva con la tecnica del Casagrandi, atta a rendere filtrabile il virus vaccinico e vaiuoloso, ⁽¹⁾ largamente applicata in questo istituto per altri virus come per quello tracomatoso dal Marongiu, e resa facile da un adatto strumentario.

Cioè ho triturato la saliva in mortaio di porcellana rugosa in presenza di quarzo, e poi in mortaio d'agata, e finalmente in mortaio d'acciaio. La poltiglia così ottenuta, diluita con poca acqua distillata sterile ho quindi filtrato attraverso candele Berkefeld W, ben provate, alla pressione di 740 mm. di mercurio, ed ho ottenuto in un caso circa 150 cm³ di filtrato nel termine di quattro minuti, e la seconda volta circa 100 cm³ di filtrato presso che nello stesso tempo.

Tali filtrati provenivano rispettivamente da una quantità di saliva di 5 cm³ (*). Questi filtrati seminati nei comuni terreni di coltura si mostrarono assolutamente sterili.

Con essi procedetti all'inoculazione nell'occhio di conigli col metodo del Negri, cioè versando alcune gocce dei medesimi sulla cornea scarificata, e poi bagnando un piccolo batufolo di ovatta sterile e collocandolo sulla cornea per 24 ore dopo avere suturata la rima palpebrale.

Praticai inoltre inoculazioni nello spessore della parotide e nel cellulare sottocutaneo negli stessi animali, nella quantità di

(2) Ann. Igiene sper. 1906 — Policl. sez. prat. N. 13, 1908.

(*) Ringrazio il Prof. Sanna Salaris di avermi lasciato usufruire del parotitico degente nel Manicomio da lui diretto.

5 cm³ nella parotide e di 15 cm³ nel sottocutaneo, nonchè iniezioni di 10 cm³ nella vena marginale dell'orecchio (*).

I fatti che fermarono la mia attenzione in seguito a questi esperimenti furono i seguenti:

I. Anzitutto nei conigli inoculati col filtrato nelle vene e nella parotide, trascorse 24 ore dalla inoculazione, si notò una elevazione della temperatura rettale, elevazione che si mantenne intorno ai 40 °C per tre giorni consecutivi.

Un coniglio di controllo inoculato col filtrato di saliva normale non presentò alcuna elevazione termica.

II. Tanto in seguito all'inoculazione del sottocutaneo, che in seguito a quella nello spessore della parotide si determinarono delle tumefazioni, a consistenza pastosa, che non tendevano alla risoluzione, persistendo ancora ben dimostrabili nel sottocutaneo dopo 2 settimane, e in corrispondenza della parotide ancora ben rilevabili dopo 8 giorni (non posso precisare sino a quando si potesse mantenere tale tumefazione avendo sacrificati gli animali per le esperienze ulteriori).

La pelle su queste tumefazioni si mostrava perfettamente spostabile. Incisa in corrispondenza della parotide, si poteva dimostrare che la tumefazione dipendeva appunto dalla parotide stessa, la quale alla superficie del taglio appariva succulenta, di un aspetto tendente al giallastro, e come cosparsa di minutissimi grani, senza che nella massa ghiandolare si rinvenisse la più piccola traccia di pus.

L'inoculazione del filtrato di saliva normale non produceva assolutamente alcuna tumefazione nè nella parotide, nè nel sottocutaneo.

Del pari l'inoculazione del cocco-bacterio più sopra citato non determinava nessun fatto degno di nota. Solo in corrispondenza del connettivo sottocutaneo un piccolo ascesso con tendenza a diffondersi lungo il collo.

III. Procedendo all'esame microscopico di lembi di epitelio della cornea dei conigli inoculati coi filtrati, e mediante l'illuminazione in campo oscuro, metteva in evidenza attorno al nucleo,

(*) Esclusivamente per mancanza di materiale non ho potuto fare esperienze in altri animali, nè praticare inoculazioni endoperitoneali. Mi riservo a suo tempo di compiere queste ricerche.

o solo da una parte di esso, o anche da un lato del protoplasma una quantità di piccoli corpiccioli rinfragenti, i quali richiamavano, senz'altro, alla mente quelli che si osservano nell'infezione vaccinica e vaiolosa corneale.



Osserv. con il Kondensor-Paraboloid. Obb. 5 a secco Kor.
18 Comp. tubo a 160 mm.

Osservando attentamente questi corpiccioli mi riusciva anche di scoprire una certa mobilità da parte loro, analogamente ancora a quanto si osserva nel vaccino e nel vaiolo.

Indubbiamente però tali corpiccioli erano più grandi di questi ultimi.

Inoculando, d'altro canto, nella cornea i vari batteri isolati nulla di simile mi riusciva di scoprire; e se i filtrati di saliva normale inoculati nello stesso modo determinavano una particolare

granulosità nelle cellule corneali, questa era rilevabile però a fresco, osservando i preparati anche senza obbiettivi ad immersione, e si mostrava costituita da granuli più grossolani, e non così caratteristicamente disposti come quelli ottenuti coi filtrati suddetti.

In altri termini, con queste esperienze trovavo: *che i filtrati assolutamente sterili di saliva di parotitici, raccolta nell'acme del processo morboso, determinavano, inoculati nello spessore della parotide e delle vene dei conigli, una elevazione termica che si manteneva, senza remissioni, per 3 giorni consecutivi; un ingorgo della parotide, inocolata direttamente, non legato alla formazione di alcun focolaio purulento; la presenza nelle cellule corneali dei conigli di quei corpiccioli che si producono in seguito alle inoculazioni di altri virus filtrabili.*

*
* *

Stando così le cose, ho proceduto a nuove ricerche, atte a stabilire se la proprietà del filtrato di determinare l'elevazione termica nei conigli e l'ingorgo della parotide con l'inoculazione diretta dei filtrati stessi in questa ghiandola, si mantenesse anche dopo vario tempo dacchè si era filtrata la saliva. L'esperimento con un filtrato perfettamente sterile, tenuto in ghiacciaia per 6 giorni, avendo determinato soltanto lieve ingorgo della parotide, senza elevamento termico, mentre messo in confronto con l'esperimento già riportato dell'inoculazione di filtrato recente di saliva normale nella parotide, avvalorava ancora il sospetto dell'esistenza nei filtrati anche non recenti di saliva di parotitici, *di un materiale non esistente nel filtrato di saliva normale*, d'altro canto parlava in favore dell'*attenuazione* di questo materiale capace di determinare l'ingorgo della parotide; e manteneva il sospetto che questo materiale rappresentasse il virus parotitico, già derivante dai fatti accertati negli esperimenti precedenti.

Diressi allora le mie ricerche esclusivamente sulle parotiti sperimentali ottenute.

Dirò subito che l'esame batteriologico praticato in un caso solo, l'unico che avessi oramai a mia disposizione per questa ricerca, non mi ha permesso di ritrovarlo sterile, mentre ho la certezza di essermi servito di filtrati sterili.

Le colture eseguite nei comuni terreni rivelavano la presenza di un cocco-bacterio, il quale però inoculato nelle parotidi dei conigli non determinava alcun fatto degno di nota.

Del pari inoculato nella cornea dei conigli non produceva quei corpiccioli, su cui ho fermato l'attenzione in seguito all'innesto dei filtrati di saliva di parotitici.

Questo germe, del resto, mi fu facile ascriverlo alla flora della bocca dei conigli, come avrò occasione di precisare a suo tempo.

Nei vari innesti fatti in agar, intanto fermava la mia attenzione lo sviluppo, presso l'acqua di condensazione, di una quantità di piccole goccioline trasparenti, puntiformi, le quali trasportate in nuovi terreni di coltura non si riproducevano.

Esaminando al microscopio questo materiale mi riusciva di scoprire per mezzo di preparati colorati: che esso era costituito da corpiccioli tutti della stessa grandezza isolati o uniti a due, piccolissimi.

Questo particolare reperto richiamò alla mia mente un'osservazione precedentemente fatta sopra una coltura di uno dei germi banali isolati dalla saliva dei parotitici, e precisamente nella coltura di una sarcina. L'esame microscopico della patina mediante preparati colorati mi aveva, infatti, permesso di mettere in evidenza oltre la sarcina, una quantità di minutissimi puntini, ai quali non avevo fin allora prestato attenzione, benchè in un successivo passaggio fatto dalla patina stessa in un altro tubo d'agar ne avessi notato la presenza, specialmente in prossimità dell'acqua di condensazione, dove per l'appunto la sarcina era meno sviluppata.

Quale sia l'importanza di questo reperto io non potrei sul momento precisare; certo non posso nascondere che mi nacque il sospetto che le piccole goccioline trasparenti sia della coltura del contenuto della parotide sia in quella inquinata della sarcina, rappresentassero una coltura del virus parotitico.

La picciolezza degli elementi non escluderebbe, del resto, la loro filtrabilità. Altri virus che si trovano al limite della visibilità, come quello della peste bovina, sono anche essi filtrabili e coltivabili.

Comunque, dato l'esistenza di questo reperto nelle colture, pensai subito che esso potesse anche mettersi in evidenza mediante l'esame istologico della ghiandola parotidea. Tralasciando quindi

per un momento le ricerche che ho in corso sull'anatomia patologica della parotite sperimentale da me ottenuta, mediante particolari colorazioni, tra cui quelle di recente usufruite dal Podwysstotzki ⁽¹⁾ fatte nelle ghiandole mascellari dei cani e dei conigli rabbidi, ho allestito dei frammenti di ghiandole, e delle sezioni delle medesime, fissate in sublimato, in alcool, in Zenker, e colorate col Giemsa diluito all' 1:20, per 24 ore.

Ho così trovato nell'interno delle cellule ammassi di granulini che si colorano in rosso, tutti delle stesse dimensioni nella maggior parte dei casi; e dico nella maggior parte, perchè talvolta mi è occorso di notare che in rosso si colorano anche degli elementi sferici di assai maggiori dimensioni, senza per altro poter stabilire se essi abbiano rapporto di natura coi primi.

Questi elementi intanto non sono certamente quelli costituenti certi ammassi di materiale granuloso, rappresentati da granuli piccoli, ma di differente grandezza, colorabili col metodo del Gram e che si rendono evidenti con gli ordinari metodi di colorazione nei preparati a striscio; e neppure, mi pare, possano avere rapporto con quei grossi elementi sferici, colorati in violetto, che si trovano nelle sezioni di parotide allestite con lo stesso metodo del Gram. Avranno essi relazione col materiale osservato nelle colture? Rappresenteranno essi il virus parotitico?

Sarebbe certamente prematuro l'affermarlo in base a queste sole ricerche: parmi quindi logico attendere, per un giudizio definitivo, l'esito di ulteriori ricerche.

Concludendo intanto anche non volendo disconoscere la possibilità dell'intervento, nell'etiologia della parotite epidemica, d'altri germi, e magari quella dell'esistenza di parotiti determinate da particolari cocchi, le mie esperienze su tipici casi di parotite, mettendo in rilievo la possibilità di ottenere, coi filtrati di saliva di ammalati di orecchioni, una parotite nei conigli, accompagnata da elevazione termica persistente per tre giorni, con presenza nelle cellule della ghiandola di corpiccioli speciali, piccolissimi, colorati col Giemsa in rosso, differenziabili dagli altri elementi più particolarmente ammassati colorabili col Gram; e quella di piccolissimi corpicciuoli nelle cellule corneali di conigli, inoculati coi filtrati, corpiccioli che sono prodotti anche da altri virus fil-

(1) Arch. d. Sc. Biol. Petersbourg, N. 4-5 1908.

trabili, inducono nel sospetto dell'esistenza del virus parotitico nei filtrati della saliva stessa.

Il virus parotitico quindi potrebbe essere *un virus filtrabile*, e poichè gli innesti della saliva dei parotitici, e della parotide inoculata con filtrati di detta saliva, avrebbero fatto sorgere il sospetto della coltivabilità del virus stesso, in condizioni tali da dimostrarsi al microscopio, senza particolari procedimenti, è lecito anche pensare che detto virus possa essere, analogamente a quello della peste bovina, coltivabile nei comuni terreni.

Cagliari, 15 settembre 1908.



